"ID-Papain"

Papain-Lösung zur Papainisierung der Erythrozyten

Produkt-Identifikation: 06311

Einleitung

Die Behandlung von Erythrozyten mit proteolytischen Enzymen verbessert deren Reaktivität mit bestimmten Antikörpern, vornehmlich im Rh-System, aber auch im Kidd-, Lewis und I-System.

Das Papainenzym spaltet Sialsäuremoleküle von Polysaccharidketten ab und reduziert die negative Ladung der Erythrozytenoberfläche. Diese Modifikation der Erythrozytenmembran erleichtert zwar die Agglutination für viele Antigen-Antikörperreaktionen, zerstört oder schwächt aber gleichzeitig auch die Antigene bestimmter Blutgruppensysteme. Die Antigene M (MNS1), N (MNS2), S (MNS3) und Duffy (Fy) sind im allgemeinen diejenigen, die durch die Enzymbehandlung der Erythrozyten am meisten betroffen sind. Der Nachweis der gegen diese Antigene gerichteten Antikörper macht die Verwendung zusätzlicher Testmethoden, wie beispielsweise den indirekten Antiglobulintest (IAT) erforderlich.

Die Zweiphasen-Papaintechnik wird zum Antikörpernachweis als empfindlicher erachtet als die Einphasentechnik, bei dem das Enzym direkt dem Erythrozyten-/Serumgemisch zugesetzt wird. Es wird darauf hingewiesen, dass die Herstellung von Enzym-Reagenzien zur Verwendung in beiden Verfahren aufgrund der Schwierigkeiten bei der Standardisierung der Konzentration und der Aktivität des Enzyms kritisch ist. Hierbei handelt es sich um Kriterien, die für zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse ausschlaggebend sind.

"ID-Papain" ist eine standardisierte flüssige Papainlösung und kann von Laboratorien, die ihre eigenen Testerythrozyten herstellen, zur Vorbehandlung der Erythrozyten oder auch als ein Enzym-Additivreagenz in einer Einphasentechnik verwendet werden.

"ID-Papain" sollte auch für die Eigenkontrolle bei Antikörper-/Nachweisverfahren unter Verwendung der papainisierten Testerythrozyten "ID-DiaCell I-II-III P", "ID-DiaScreen" und/oder "ID-DiaPanel P" eingesetzt werden.

Reagenzien

IVD

"ID-Papain": Flüssige Papainlösung zur Papainisierung von Erythrozyten und als additives Enzymreagenz, gebrauchsfertig, in 10 mL Fläschchen.
Konservierungsmittel: < 0,1% NaN_3.

Lieferung im Abonnement alle 4 Wochen.

2 °C – 8 °C

Stabilität: siehe Verfallsdatum auf dem Etikett.

Zuätzlich benötigte Reagenzien

- ID-CellWash P: Waschlösung für papainisierte Erythrozyten.
- ID-CellStab: Stabilisierungslösung für papainisierte Erythrozyten.
- 0,9%ige isotonische Kochsalzlösung zur Herstellung der Erythrozytensuspension.

(siehe diesbezügliche Packungsbeilage)

Weitere erforderliche Materialien

- Pipetten (25 µL, 50 µL, 1 mL, 5 mL)
- Reagenzgläser

Probenmaterial

Für verlässliche Resultate sollte die Bestimmung mit frisch abgenommenen Proben durchgeführt werden oder in Übereinstimmung mit lokalen Laborvorschriften für die Akzeptanz von Probenmaterial erfolgen. Vorzugsweise sollte die Probengewinnung in den Antikoagulantien Citrat, EDTA oder CPD-A erfolgen. Native Proben (kein Antikoagulanz) können auch verwendet werden.

"ID-Papain"

Papain solution for papainizing red cells

Product-Identification: 06311

Introduction

The treatment of red cells with proteolytic enzymes enhances their reactivity with certain antibodies, notably those in the Rh system, but also in the Kidd, Lewis and I systems.

Papain enzyme cleaves sialic acid molecules from polysaccharide chains, reducing the net negative charge at the red cells surface. This modification of the red cell membrane enables agglutination to take place more readily for many antigen-antibody reactions but simultaneously destroys or weakens antigens of certain blood group systems. The M (MNS1), N (MNS2), S (MNS3) and Duffy (Fy) blood group systems antigens are commonly implicated as being most affected by enzyme treatment of the red cells. Detection of anti-bodies directed against these antigens requires the use of additional test methodology e.g. indirect antiglobulin test (IAT).

The two stage papain technique is recognised as being more sensitive for the detection of antibodies than a one stage technique whereby the enzyme is added directly to the red cell/serum mixture. It should be noted that the preparation of enzyme reagents for use in either method is critical since it is difficult to standardise the concentration and activity of the enzyme, criteria that are important for reliable and reproducible results.

"ID-Papain" is a standardised liquid papain solution and may be used for pre-treating red cells by laboratories that prepare their own red cell reagents, or may be used as an enzyme additive reagent in a one stage technique.

"ID-Papain" should also be used for the autocontrol in antibody screening/identification procedures using papainized test cells "ID-DiaCell I-II-III P", "ID-DiaScreen" and/or "ID-DiaPanel P".

Reagents

IVD

"ID-Papain": liquid papain solution for papainizing red cells and for use as additive enzyme reagent, ready-to-use, in 10 mL vials.
Preservative: < 0,1% NaN_3.

Shipment on standing order every 4 weeks.

2 °C – 8 °C

Stability: see expiry date on label.

Additional reagents required

- ID-CellWash P: wash solution for papainized cells.
- ID-CellStab: stabilization solution for papainized cells.
- Isotonic saline solution 0,9% for red cell suspension.

(see related package insert)

Further materials required

- Pipettes (25 µL, 50 µL, 1 mL, 5 mL)
- Glass test tubes

Sample material

For optimal results, the determination should be performed using a freshly drawn sample, or in accordance with local laboratory procedures for sample acceptance criteria. Preferably, blood samples should be drawn into citrate, EDTA or CPD-A anticoagulant. Samples drawn into plain tubes (no anticoagulant) may also be used.

"ID-Papain"

Solution de papaïne pour la papaïnisation des hématies

Identification de produit: 06311

Introduction

Le traitement des hématies avec des enzymes protéolytiques améliore leur réactivité avec certains anticorps, particulièrement ceux du système Rh, mais aussi ceux des systèmes Kidd, Lewis et I.

L'enzyme papaïne clive les molécules d'acide sialique des chaînes de polysaccharides, réduisant ainsi la charge négative à surface des hématies. Cette modification de la membrane des hématies permet à l'agglutination de se dérouler plus facilement pour de nombreuses réactions antigène-anticorps mais, en même temps, elle détruit ou affaiblit les antigènes de certains systèmes de groupes sanguins. Les antigènes M (MNS1), N (MNS2), S (MNS3) et Duffy (Fy) sont ceux qui sont les plus affectés par le traitement enzymatique des hématies. La détection d'anticorps dirigés contre ces antigènes exige l'usage d'autres méthodes telles que le test indirect à l'antiglobuline (TIA).

Il est admis que la technique de la papaïne à deux temps est plus sensible pour la détection d'anticorps qu'une méthode à un seul temps qui consiste à ajouter l'enzyme directement au mélange d'hématies/sérum. Il est bon de faire remarquer que la préparation des réactifs enzymatiques à utiliser est critique, car il est difficile de normaliser la concentration et l'activité de l'enzyme, critères qui sont importants pour obtenir des résultats fiables et reproductibles.

"ID-Papain" est une solution de papaïne liquide standardisée qui peut être utilisée pour prétraiter les hématies par les laboratoires qui préparent leurs propres hématies-tests et comme réactif additif dans la technique à un seul temps.

"ID-Papain" est également utilisée pour l'auto-contrôle dans les procédures pour dépistage/identification des anticorps lors de l'utilisation des hématies-tests "ID-DiaCell I-II-III P", "ID-DiaScreen" et "ID-DiaPanel P".

Réactifs

IVD

"ID-Papain": Solution de papaïne liquide pour papaïner les hématies et comme réactif additif, prêt à l'emploi, en flacons de 10 mL.
Conservateur: < 0,1% NaN_3.

Livraison en abonnement toutes les 4 semaines.

2 °C – 8 °C

Stabilité: voir la date de péremption sur l'étiquette.

Réactifs supplémentaires nécessaires

- ID-CellWash P: solution de lavage pour les hématies papaïnées.
- ID-CellStab: solution de stabilisation pour hématies papaïnées.
- Solution saline isotonique à 0,9% pour suspensions d'hématies.

(voir mode d'emploi correspondant)

Matériaux supplémentaires nécessaires

- Pipettes (25 µL, 50 µL, 1 mL, 5 mL)
- Tubes en verre

Echantillons

Afin d'obtenir des résultats fiables, la détermination devrait se faire sur du matériel fraîchement prélevé ou conforme aux exigences du laboratoire auquel la demande d'analyses est adressée. L'échantillon devrait être prélevé de préférence sur anticoagulant citrate, EDTA ou CPD-A. Du sang prélevé sans anticoagulant (natif) peut également être utilisé.

Français

DiaMed-ID
Micro Typing System

B005510 07.06

Méthode

I. Utilisation comme réactif additif (technique à un temps)

Ramener l'"ID-Papain" à température ambiante (18-25 °C) avant utilisation.

- Après avoir distribué les suspensions d'hématies et le plasma ou le sérum, ajouter 25 µL d'"ID-Papain" aux microtubes appropriés d'une carte-ID, selon la procédure de test indiquée dans le mode d'emploi correspondant.
- Pour la méthode de travail précise, se référer à la notice des cartes-ID employées pour la technique enzymatique.

II. Papaïnisation des hématies (téchnique à deux temps)
(les volumes peuvent être modifiés proportionnellement)

1. Laver l'échantillon de sang 3 fois avec une solution saline isotonique.
2. Décanter complètement le surnageant après le dernier lavage.
3. Préparer une suspension d'hématies à 5% en solution saline isotonique comme suit:
- Distribuer 1,0 mL de solution saline isotonique dans un tube de verre propre.
- Ajouter 50 µL du culot d'hématies lavées.

4. Ajouter 1 mL d'"ID-Papain".
5. Mélanger doucement et incuber 5 minutes à température ambiante (18-25 °C).
6. Laver 2 fois avec "ID-CellWash P".
7. Décanter complètement le surnageant.
8. Préparer une suspension d'hématies à 0,8% comme suit:
- Distribuer 5,0 mL d'"ID-CellStab" dans un tube en verre propre.
- Ajouter 50 µL de culot d'hématies papaïnées.

9. Bien mélanger avant utilisation.

Pour éviter des contaminations bactériennes, n'utiliser que des flacons et des bouchons stériles pour la conservation à 2-8 °C pendant 2 semaines.

Remarques

1. N'utiliser que des flacons et des bouchons stériles lorsque les hématies papaïnées doivent être conservées.
2. Pour tester les hématies papaïnées, utiliser un anticorps anti-Fy(a) ou anti-Fy(b), anti-M ou anti-N, ou anti-S comme contrôle négatif (selon le phénotype des hématies). Les tests avec ces anticorps doivent donner des réactions négatives. Si les réactions sont positives, la papaïnisation n'a pas été réalisée correctement.
3. Un anticorps incomplet et connu pour ne réagir qu'en technique enzymatique devra être utilisé comme contrôle positif.
4. Un surtraitement des hématies avec une enzyme risque de provoquer des réactions positives non-spécifiques.

Limites

a) Des contaminations, bactériennes ou autres, du matériel utilisé peuvent provoquer des résultats faussement positifs ou faussement négatifs.
b) L'observation stricte des méthodes et l'emploi de l'équipement recommandé sont essentiels. L'équipement doit être régulièrement contrôlé selon les procédures des BPL.

Bibliographie

1. Technical Manual; 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.
2. Mollison, P.L., Engelfriet, C.P. und Contreras, M.: Blood Transfusion in Clinical Medicine, 10th ed. 1997; Blackwell Scientific Publications, Oxford.
3. Issitt, P.D. Applied Blood Group Serology, 3rd ed. 1985; p:222; Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, U.S.A.
4. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.

Produit

"ID-Papain"
1 x 10 mL . . . . . REF 005510
10 x 10 mL . . . . . REF 005511

Ces produits sont garantis quant à leurs propriétés et qualités stipulées sur l'étiquette et dans le mode opératoire. Le fabricant décline toute responsabilité pour les cas où ces produits seraient employés ou vendus à d'autres usages.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Suisse

English

DiaMed-ID
Micro Typing System

B005510 07.06

Test procedure

I. Use as an additive enzyme reagent (one stage technique)

Allow "ID-Papain" to reach room temperature (18-25 °C) before use.

- After pipetting the red cell suspensions and plasma or serum, add 25 µL of "ID-Papain" to the appropriate microtubes of an ID-Card corresponding to the required test procedure.
- Refer to the specific instruction sheet of the ID-Cards used for enzyme tests, for precise working conditions.

II. Use for enzyme treatment of red cells prior to their use (two stage technique)
(volumes may be adjusted proportionally)

1. Wash the blood sample 3 times with isotonic saline solution.
2. Remove supernatant completely after last wash.
3. Prepare a 5% red cell suspension in isotonic saline solution as follows:
- Dispense 1,0 mL of isotonic saline solution into a clean glass tube.
- Add 50 µL of washed packed cells.

4. Add 1,0 mL of "ID-Papain".
5. Mix carefully and incubate for 5 minutes at room temperature (18-25 °C).
6. Wash twice with "ID-CellWash P".
7. Remove supernatant completely.
8. Prepare a 0,8% red cell suspension as follows:
- Dispense 5,0 mL "ID-CellStab" into a clean glass tube.
- Add 50 µL of the papainized packed cells.

9. Mix well before use.

To avoid bacterial contamination, use only sterilized vials and caps for storage. The papainized cells may be used for up to 2 weeks if stored at 2-8 °C in sterilized vials.

Remarks

1. Use only sterilized vials and caps when papainized red cell reagents are to be stored.
2. To test the papainized red cells, use anti-Fy(a) or anti-Fy(b), anti-M or anti-N or anti-S as negative controls as appropriate. Testing with these antibodies must result in negative reactions. If positive reactions are obtained, papainization has not been satisfactorily achieved.
3. A suitable incomplete antibody known to react only by enzyme technique should be used as a positive control.
4. Over-treatment of red cells by enzyme may result in unwanted positive reactions due to the exposure of crypt-antigens.

Limitations

a) Bacterial or other contamination of materials used can cause false positive or false negative results.
b) Strict adherence to the procedures and recommended equipment is essential.
The equipment should be checked regularly according to GLP procedures.

Bibliography

1. Technical Manual; 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.
2. Mollison, P.L., Engelfriet, C.P. und Contreras, M.: Blood Transfusion in Clinical Medicine, 10th ed. 1997; Blackwell Scientific Publications, Oxford.
3. Issitt, P.D. Applied Blood Group Serology, 3rd ed. 1985; p:222; Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, U.S.A.
4. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.

Product

"ID-Papain"
1 x 10 mL . . . . . REF 005510
10 x 10 mL . . . . . REF 005511

These products are guaranteed to perform as described on the label and in the instruction sheet. The manufacturer declines all responsibility arising out of the use or sale of these products in any way or for any purpose other than those described therein.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Switzerland

Deutsch

DiaMed-ID
Micro Typing System

B005510 07.06

Test-durchführung

I. Verwendung als additives Enzymreagenz (Einphasentechnik)

"ID-Papain" vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25 °C) bringen.

- Nach Pipettierung von Erythrozytensuspensionen und Plasma oder Serum 25 µL "ID-Papain" in die entsprechenden Mikroröhrchen einer ID-Karte für das gewünschte Testverfahren geben.
- Genaues Arbeitsverfahren der Gebrauchsanleitung der verwendeten ID-Karten für Enzymtechniken verwenden.

II. Enzymbehandlung von Erythrozyten vor deren Gebrauch (Zweiphasentechnik)
(Volumen können proportional verändert werden)

1. Blutprobe 3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung waschen.
2. Überstand nach der letzten Waschung vollständig entfernen.
3. Eine 5%ige Erythrozytensuspension in 0,9%iger isotonischer Kochsalzlösung wie folgt zubereiten:
- 1,0 mL isotonischer Kochsalzlösung in ein sauberes Reagenzglas geben.
- 50 µL des gewaschenen Erythrozytenkonzentrats zugeben.

4. 1,0 mL "ID-Papain" zugeben.
5. Gut mischen und 5 Minuten bei Raumtemperatur (18-25 °C) inkubieren.
6. 2 x mit "ID-CellWash P" waschen.
7. Überstand vollständig entfernen.
8. Eine 0,8%ige Erythrozytensuspension wie folgt zubereiten:
- 5,0 mL "ID-CellStab" in ein sauberes Reagenzglas geben.
- 50 µL des papainisierten Erythrozytenkonzentrats zugeben.

9. Vor Gebrauch gut mischen.

Bakterielle Verschmutzung vermeiden und zur Lagerung nur sterilisierte Fläschchen und Deckel verwenden. Bei Abfüllung in sterilisierte Fläschchen und Lagerung bei 2-8 °C sind die papainisierten Erythrozyten 2 Wochen haltbar.

Anmerkungen

1. Zur Lagerung von papainisierten Testerythrozyten nur sterilisierte Behälter und Deckel verwenden.
2. Um die papainisierten Erythrozyten zu testen, Anti-Fy(a) oder Anti-Fy(b), Anti-M oder Anti-N oder Anti-S entsprechend dem Antigen als negative Kontrolle (je nach Erythrozytengruppe) verwenden. Die Tests mit diesen Antikörpern müssen negative Reaktionen zeigen. Bei positiven Reaktionen wurde keine ausreichende Papainisierung erreicht.
3. Als positive Kontrolle sollte ein geeigneter inkompletter Antikörper verwendet werden der nur mit der Enzymtechnik reagiert.
4. Die Überbehandlung von Erythrozyten durch Enzym kann aufgrund der Expo-sition von Kryptantigenen unerwünschte unspezifische positive Reaktionen verursachen.

Ein-schränkungen

a) Bakterielle oder andere Kontaminationen des verwendeten Materials können falsch positive oder falsch negative Ergebnisse verursachen.
b) Striktes Befolgen der Anleitungen und Verwendung des erforderlichen Arbeitsmaterials sind unerlässlich.
Das Arbeitsmaterial sollte regelmässig entsprechend der GLP - Richtlinien überprüft werden.

Literatur

1. Technical Manual; 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.
2. Mollison, P.L., Engelfriet, C.P. und Contreras, M.: Blood Transfusion in Clinical Medicine, 10th ed. 1997; Blackwell Scientific Publications, Oxford.
3. Issitt, P.D. Applied Blood Group Serology, 3rd ed. 1985; p:222; Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, U.S.A.
4. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.

Produkt

"ID-Papain"
1 x 10 mL . . . . . REF 005510
10 x 10 mL . . . . . REF 005511

Für diese Produkte wird nur Garantie übernommen, wenn sie gemäss den Angaben auf dem Etikett und der Anwendungsvorschrift verwendet werden. Jegliche Verantwortung wird ausdrücklich abgelehnt, wenn das Präparat für andere Zwecke gebraucht oder verkauft wird.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Schweiz

"ID-Papain"

Soluzione di papaina per la papainizzazione di eritrociti

Identificazione prodotto: 06311

Introduzione

Il trattamento degli eritrociti con enzimi proteolitici aumenta la loro reattività con determinati anticorpi, precisamente quelli del sistema Rh, ma anche dei sistemi Kidd, Lewis e I.

L'enzima papaina taglia i residui di acido sialico dalle catene di polisaccaridiche, riducendo la carica negativa netta sulla superficie eritrocitaria. Questa modifica della membrana eritrocitaria facilita l'agglutinazione in numerose reazioni antigene-anticorpo, ma distrugge o indebolisce simultaneamente gli antigeni di determinati sistemi gruppo-ematici. Gli antigeni dei sistemi gruppo-ematici M (MNS1), N (MNS2), S (MNS3) e Duffy (Fy) sono di norma considerati quelli più influenzati dal trattamento enzimatico degli eritrociti. La determinazione di anticorpi diretti contro questi antigeni richiede l'impiego di un ulteriore metodo di analisi, ad es. il test indiretto per all'antiglobulina (TAI).

Il metodo enzimatico a due stadi in papaina è ritenuto più sensibile per la determinazione di anticorpi rispetto al metodo monofase, in cui l'enzima viene aggiunto direttamente alla miscela siero/eritrociti. Si deve tenere presente che la preparazione di reagenti enzimatici da utilizzare in una metodica o nell'altra è una operazione molto delicata data la difficoltà di standardizzare la concentrazione e l'attività dell'enzima, criteri importanti per ottenere risultati attendibili e riproducibili.

"ID-Papain" è una soluzione di papaina liquida standardizzata che può essere utilizzata per pretrattare gli eritrociti in laboratori che preparano autonomamente emazie testo, oppure come reagente enzimatico additivo nei metodi monofase.

"ID-Papain" deve essere inoltre utilizzata per l'autocontrollo in procedure di identificazione/screening degli anticorpi, che impiegando emazie testo papainizzate "ID-DiaCell I-II-III P", "ID-DiaScreen" e/o "ID-DiaPanel P".

Reagente

IVD

"ID-Papain": soluzione di papaina liquida per papainizzazione di eritrociti e da utilizzare come reagente enzimatico additivo, pronta per l'uso, in flaconi da 10 mL.
Conservante: < 0,1% NaN_3.

Consegna in abbonamento, ogni 4 settimane.

2 °C – 8 °C

Stabilità: vedere la data di scadenza sull'etichetta.

Altri reagenti occorrenti

- ID-CellWash P: soluzione di lavaggio per eritrociti papainizzati.
- ID-CellStab: soluzione di stabilizzazione per eritrociti papainizzati.
- Soluzione salina isotonica allo 0,9% per la produzione di sospensioni di eritrociti.

(consultare la relativa scheda tecnica)

Altri materiali occorrenti

- Pipette (25 µL, 50 µL, 1 mL, 5 mL)
- Provette per test

Campioni

Per ottenere risultati attendibili, si consiglia di eseguire la determinazione su un campione fresco o conforme alle procedure del laboratorio per i criteri di accettazione dei campioni. I campioni devono essere prelevati preferibilmente in citrato, EDTA o CPD-A. Si possono comunque usare anche campioni prelevati in provette normali (senza anticoagulante).

"ID-Papain"

Solución de papaína para la papainización de eritrocitos

Identificación del producto: 06311

Introducción

El tratamiento de eritrocitos con enzimas proteolíticas aumenta su reactividad con determinados anticuerpos, en particular los del sistema Rh, pero también los de los sistemas Kidd, Lewis e I.

La enzima papaína separa moléculas de ácido siálico de las cadenas de polisacáridos, reduciendo la carga negativa neta en la superficie de los eritrocitos. La modificación de la membrana de los eritrocitos facilita la aglutinación para muchas reacciones antígeno-anticuerpo, pero al mismo tiempo destruye o debilita los antígenos de algunos sistemas de grupos sanguíneos. Generalmente se considera que los antígenos de los sistemas de grupos sanguíneos M (MNS1), N (MNS2), S (MNS3) y Duffy (Fy) son los más afectados por el tratamiento enzimático de los eritrocitos. La detección de anticuerpos contra estos antígenos requiere añadir métodos analíticos adicionales, p.ej. la prueba de antiglobulina indirecta (PAI).

Se sabe que la técnica de papaína en dos fases, es más sensible para la detección de anticuerpos que la técnica en una fase, en la cual, el enzima es añadido directamente a la mezcla de eritrocitos y suero plasma. Debe resaltarse que la preparación de los reactivos enzimáticos para su uso con cualquiera de los métodos es crucial, ya que es difícil estandarizar la concentración y la actividad del enzima, criterios imprescidibles para lograr unos resultados fiables y reproducibles.

El reactivo "ID-Papain" es una solución estandarizada de papaína que puede usarse para el tratamiento en dos fases de los eritrocitos, en aquellos laboratorios que papainizan préviamente sus propios eritrocitos, o usarse como reactivo enzimático de adición en técnicas enzimáticas en una sóla fase.

"ID-Papain" también debe utilizarse para el autocontrol en procedimientos de detección e identificación de anticuerpos que empleen eritrocitos reactivo papainizados "ID-DiaCell I-II-III P", "ID-DiaScreen" o "ID-DiaPanel P".

Reactivos

IVD

"ID-Papain": solución líquida de papaína para papainizar eritrocitos o emplear como reactivo enzimático de adición, lista para usar, en frascos de 10 mL.

Conservante: < 0,1% NaN_3.

Envío cada 4 semanas (por suscripción).

2 °C – 8 °C

Estabilidad: véase fecha de caducidad en la etiqueta.

Reactivos adicionales necesarios

- ID-CellWash P: solución de lavado para eritrocitos papainizados
- ID-CellStab: solución de estabilización para eritrocitos papainizados
- Solución salina isotónica al 0,9% para suspensión de eritrocitos.

(véase el prospecto correspondiente)

Otros materiales necesarios

- Pipetas 25 µL, 50 µL, 1 mL, 5 mL
- Tubos de ensayo de vidrio

Muestras

Para un resultado óptimo, la determinación debe realizarse con una muestra recién extraída, o cumpliendo la normativa local del laboratorio en cuanto a criterios de aceptabilidad de las muestras. Preferiblemente, las muestras de sangre deben recogerse utilizando citrato, EDTA o CPD-A como anticoagulante. También es posible utilizar muestras recogidas en tubos sin anticoagulante.

"ID-Papain"

Solución de papaína para papainización de eritrocitos

Identificação do Produto: 06311

Introdução

O tratamento de eritrócitos com enzimas proteolíticas melhora a sua reactividade com certos anticorpos, nomeadamente do sistema Rh, mas também dos sistemas Kidd, Lewis e I.

A enzima papaína cliva as moléculas de ácido siálico das cadeias polissacarídeas, reduzindo a carga negativa líquida à superfície dos eritrócitos. Esta alteração da membrana eritrocitária permite uma aglutinação mais rápida em muitas reacções antigénio-anticorpo, mas ao mesmo tempo destrói ou enfraquece antigénios de certos sistemas de grupos sanguíneos. Os antigénios dos sistemas dos grupos sanguíneos M (MNS1), N (MNS2), S (MNS3) e Duffy (Fy) são frequentemente considerados como os mais afectados pelo tratamento enzimático dos eritrócitos. A detecção dos anticorpos dirigidos contra estes antigénios requer a utilização de metodologia de teste adicional, por exemplo do teste de antiglobulina indirecto (TAI).

A técnica bifásica com papaína é reconhecida como sendo mais sensível para a detecção de anticorpos do que a técnica unifásica, na qual a enzima é directamente adicionada à mistura de eritrócitos/soro. Deve notarse que a preparação de reagentes enzimáticos para utilização em qualquer dos métodos é crucial, pois é difícil normalizar a concentração e actividade da enzima, critérios que são importantes para a obtenção de resultados fiáveis e reprodutíveis.

O "ID-Papain" é uma solução líquida de papaína normalizada que pode ser utilizada no pré-tratamento de eritrócitos por laboratórios que preparam os seus próprios reagentes eritrocitários, ou que pode ser utilizada como um reagente enzimático aditivo numa técnica unifásica.

O "ID-Papain" também deve ser utilizado para autocontrolo em procedimentos de pesquisa/identificação de anticorpos utilizando eritrócitos teste papainizados "ID-DiaCell I-II-III P", "ID-DiaScreen" e/ou "ID-DiaPanel P".

Reagentes

IVD

ID-Papain: solução de papaína líquida para papainização de eritrócitos e para utilização como reagente enzimático aditivo, pronto a utilizar, em frascos de 10 mL.
Conservante: < 0,1% NaN_3.

Expedição de encomendas permanentes de 4 em 4 semanas.

2 °C – 8 °C

Estabilidade: ver prazo de validade no rótulo.

Reagentes adicionais necessários

- ID-CellWash P: solução de lavagem para eritrócitos papainizados.
- ID-CellStab: solução de estabilização para eritrócitos papainizados.
- Solução isotónica salina a 0,9% para suspensão de eritrócitos.

(ver folheto informativo correspondente)

Outros materiais necessários

- Pipetas (25 µL, 50 µL, 1 mL, 5 mL)
- Tubos de ensaio de vidro

Amostras

Para obtenção dos resultados ideais, a determinação deve ser realizada numa amostra recentemente colhida, ou em conformidade com os critérios de aceitação do procedimento laboratorial local. As amostras de sangue devem, de preferência, ser colhidas em anticoagulante citrato, EDTA ou CPD-A. Também é possível utilizar amostras colhidas em tubos limpos (sem anticoagulante).

Procedimento do teste

I. Utilização como reagente enzimático aditivo (técnica unifásica)

Antes de utilizar, deixe o "ID-Papain" atingir a temperatura ambiente (18-25 °C).

- Após pipetar a suspensão de eritrócitos e o soro ou plasma para os microtubos apropriados de um Card-ID correspondente ao procedimento de teste exigido, adicione 25 µL de "ID-Papain" aos microtubos apropriados.
- Para condições de trabalho precisas, consulte as instruções de utilização específicas dos Cards-ID utilizados nos testes enzimáticos.

II. Utilização no tratamento enzimático de eritrócitos antes da sua utilização (técnica bifásica)
(os volumes podem ser ajustados proporcionalmente)

1. Lave 3 vezes a amostra sanguínea em solução isotónica salina.
2. Remova completamente o sobrenadante após a última lavagem.
3. Prepare uma suspensão de eritrócitos a 5% em solução isotónica salina do seguinte modo:
- Dispense 1,0, mL de solução isotónica salina num tubo de vidro limpo.
- Adicione 50 µL de concentrado de eritrócitos lavados.

4. Adicione 1,0 mL de "ID-Papain".
5. Misture bem e incube durante 5 minutos à temperatura ambiente (18-25 °C).
6. Lave duas vezes com "ID-CellWash P".
7. Remova completamente o sobrenadante.
8. Prepare uma suspensão de eritrócitos a 0,8% do seguinte modo:
- Dispense 5,0 mL de "ID-CellStab" num tubo limpo de vidro.
- Adicione 50 µL de concentrado de eritrócitos papainizadas.

9. Misture bem antes de utilizar.

A fim de evitar a contaminação bacteriana, utilize apenas frascos e tampas esterilizados para conservação. Os eritrócitos papainizados podem ser utilizados durante 2 semanas se forem conservados a 2-8 °C em frascos esterilizados.

Observações

1. Quando pretender conservar reagentes com eritrócitos papainizados, utilize apenas frascos e tampas esterilizadas.
2. Para testar os eritrócitos papainizados, utilize anti-Fy(a) ou anti-Fy(b), anti-M ou anti-N ou anti-S, consoante for apropriado, como controlos negativos.
   Os testes com estes anticorpos têm de resultar em reacções negativas. No caso de obtenção de reacções positivas, a papainização não foi conseguida de modo satisfatório.
3. Deve utilizar como controlo positivo um anticorpo incompleto adequado conhecido por reagir apenas com técnicas enzimáticas.
4. O sobretratamento enzimático de eritrócitos pode resultar em reacções positivas não desejadas, devido à exposição a criptoantigénos.

Limitações

a) A contaminação, bacteriana ou outra, dos materiais utilizados pode originar resultados falsamente positivos ou falsamente negativos.
b) O cumprimento estrito dos procedimentos e a utilização do equipamento recomendado são essenciais.
   O equipamento deve ser verificado regularmente em conformidade com os procedimentos de BPL.

Bibliografia

1. Technical Manual; 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.
2. Mollison, P.L., Engelfriet, C.P. und Contreras, M.: Blood Transfusion in Clinical Medicine, 10th ed. 1997; Blackwell Scientific Publications, Oxford.
3. Issitt, P.D. Applied Blood Group Serology, 3rd ed. 1985; p:222; Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, U.S.A.
4. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.

Produtos

"ID-Papain" 1 x 10 mL . . . . . REF 005510
10 x 10 mL . . . . . REF 005511

Estes produtos são garantidos quanto ao seu comportamento funcional, tal como descrito no rótulo e nas instruções de utilização. O fabricante declina toda a responsabilidade decorrente da utilização ou venda destes produtos para fins diferentes dos aí descritos.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Suíça

Procedimiento de la prueba

I. Uso como reactivo enzimático de adición (técnica en una fase)

Deje que "ID-Papain" alcance la temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su uso.

- Después de pipetear las suspensiones de eritrocitos y el plasma o suero, añada 25 µL de "ID-Papain" a los microtubos correspondientes, según el procedimiento.
- Consulte las condiciones de trabajo exactas en la hoja de instrucciones específica según la tarjeta ID-Card utilizada en la prueba enzimática.

II. Tratamiento enzimático de eritrocitos en dos fases
(los volúmenes pueden ajustarse proporcionalmente)

1. Lave la muestra de sangre 3 veces con solución salina isotónica.
2. Elimine completamente el sobrenadante después del último lavado.
3. Prepare una suspensión de eritrocitos al 5% en solución salina isotónica según el procedimiento siguiente:
- Pipetee 1,0 mL de solución salina isotónica en un tubo de vidrio limpio.
- Añada 50 µL de eritrocitos concentrados lavados.

4. Añada 1,0 mL de "ID-Papain".
5. Mezcle cuidadosamente e incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).
6. Realice dos lavados con "ID-CellWash P".
7. Elimine por completo el sobrenadante.
8. Prepare una suspensión de eritrocitos al 0,8% del modo siguiente:
- Pipetee 5,0 mL de "ID-CellStab" en un tubo de vidrio limpio.
- Añada 50 µL de los eritrocitos concentrados papainizados.

9. Mezcle bien antes del uso.

Para evitar contaminación bacteriana, utilice únicamente frascos y tapones esterilizados para su conservación. Los eritrocitos papainizados pueden utilizarse durante un periodo de hasta 2 semanas si se guardan entre 2 y 8 °C en frascos esterilizados.

Observaciones

1. Utilice únicamente frascos y tapones esterilizados para la conservación de reactivos de eritrocitos papainizados.
2. Para probar la correcta papainización de los eritrocitos tratados, utilice como control negativo sueros con anti-Fy(a) o anti-Fy(b), anti-M o anti-N o anti-S según el caso.
   Estos anticuerpos deben dar lugar a reacciones negativas. Si se obtienen reacciones positivas, la papainización no se ha realizado adecuadamente.
3. Como control positivo debe utilizarse un anticuerpo incompleto adecuado del que se sepa que sólo reacciona en técnica enzimática.
4. Un tratamiento enzimático excesivo de los eritrocitos puede dar lugar a reacciones positivas no deseadas debido a la exposición de criptoantígenos.

Limitaciones

a) La contaminación de los materiales empleados, bacteriana o de otro tipo, puede provocar falsos positivos o falsos negativos.
b) Es esencial atenerse estrictamente a los procedimientos y equipos recomendados.
   El equipo debe comprobarse periódicamente según la normativa de prácticas de laboratorio correctas (GLP).

Bibliografía

1. Technical Manual; 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.
2. Mollison, P.L., Engelfriet, C.P. und Contreras, M.: Blood Transfusion in Clinical Medicine, 10th ed. 1997; Blackwell Scientific Publications, Oxford.
3. Issitt, P.D. Applied Blood Group Serology, 3rd ed. 1985; p:222; Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, U.S.A.
4. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.

Productos

"ID-Papain" 1 x 10 mL . . . . . REF 005510
10 x 10 mL . . . . . REF 005511

Se garantiza que estos productos se comportarán según lo descrito en la etiqueta y en la hoja de instrucciones. El fabricante declina toda responsabilidad en caso de que los productos se utilicen o vendan para cualquier otro uso diferente de los allí descritos.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Suiza

Procedura

I. Utilizzo come reagente enzimatico additivo (metodo monofase)

Prima dell'uso portare "ID-Papain" a temperatura ambiente (18-25°C).

- Pipettare la sospensione di eritrociti e il campione di siero o plasma nelle microprovette corrispondenti di una Scheda ID-Card, quindi aggiungere 25 µL di "ID-Papain" ad ogni microprovetta.
- Consultare la scheda tecnica corrispondente alle Schede ID utilizzate per i test enzimatici.

II. Utilizzo per trattamento enzimatico degli eritrociti (metodo a due fasi)
(i volumi possono essere adeguati proporzione)

1. Lavare il campione di sangue 3 volte con soluzione salina isotonica.
2. Dopo l'ultimo lavaggio rimuovere completamente il supernatante.
3. Preparare una sospensione di eritrociti al 5% in soluzione salina isotonica nel modo seguente:
- Pipettare 1,0 mL di soluzione salina isotonica in una provetta pulita.
- Aggiungere 50 µL di concentrato di eritrociti lavato.

4. Aggiungere 1,0 mL di "ID-Papain".
5. Miscelare accuratamente e incubare per 5 minuti a temperatura ambiente (18-25 °C).
6. Lavare due volte con "ID-CellWash P".
7. Rimuovere completamente il supernatante.
8. Preparare una sospensione di eritrociti allo 0,8% nel modo seguente:
- Pipettare 5,0 mL di "ID-CellStab" in una provetta pulita.
- Aggiungere 50 µL di eritrociti concentrati lavati e papainizzati.

9. Miscelare bene prima dell'uso.

Per impedire contaminazioni batteriche, utilizzare per la conservazione solo flaconi e cappucci sterilizzati. Gli eritrociti papainizzati possono essere utilizzati per 2 settimane se conservati a 2-8 °C in flaconi sterilizzati.

Note

1. Utilizzare solo flaconi e cappucci sterilizzati per la conservazione di reagenti eritrocitarii papainizzati.
2. Per testare gli eritrociti papainizzati, utilizzare opportunamente anti-Fy(a) o anti-Fy(b), anti-M o anti-N o anti-S come controlli negativi.
   I test con questi anticorpi devono produrre risultati negativi. In caso di risultati positivi, papainizzazione non è stata ottimale.
3. Si raccomanda di utilizzare come controllo positivo un adeguato anticorpo incompleto noto che reagisca solamente in metodo enzimatico.
4. Un eccessivo trattamento enzimatico degli eritrociti può comportare reazioni positive indesiderate per l'esposizione di criptoantigeni.

Limitazioni

a) Contaminazioni batteriche o di altro tipo del materiale utilizzato possono essere causa di risultati falsamente negativi o positivi.
b) È indispensabile seguire scrupolosamente le istruzioni e impiegare il materiale di lavoro raccomandato.
   Il materiale di lavoro deve essere controllato regolarmente secondo le direttive GLP.

Bibliografia

1. Technical Manual; 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.
2. Mollison, P.L., Engelfriet, C.P. und Contreras, M.: Blood Transfusion in Clinical Medicine, 10th ed. 1997; Blackwell Scientific Publications, Oxford.
3. Issitt, P.D. Applied Blood Group Serology, 3rd ed. 1985; p:222; Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, U.S.A.
4. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J. et al.: The gel test; A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990; 30: 109-113.

Prodotti

"ID-Papain" 1 x 10 mL . . . . . REF 005510
10 x 10 mL . . . . . REF 005511

Si garantiscono per questi prodotti le prestazioni descritte sull'etichetta e nel foglio di istruzioni. Il produttore declina ogni responsabilità derivante dall'uso improprio o dalla vendita di questi prodotti per scopi diversi da quelli qui descritti.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Svizzera